

Prevalensi Malaria Pada Burung di Taman Nasional Gunung Merapi Dengan Metode Nested PCR

(The Prevalence of Avian Malaria in Birds of Merapi National Park Using Nested PCR)

Tity Levinawati Sainawal, Ign. Pramana Yuda, M.Si, Ph.D, Dr. Felicia Zahida, M.Sc
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jl. Babarsari No.44 Yogyakarta
slevinawati@gmail.com

ABSTRAK

Molekuler menjadi alternatif terbaik saat ini dalam bidang kesehatan dan konservasi genetik terutama sebagai jawaban atas kesulitan diagnosa penyakit malaria pada burung dengan metode konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk melihat keberadaan parasit malaria yakni *Plasmodium*, *Leucocytozoon*, dan *Haemoproteus* pada 24 sampel burung yang berasal dari 11 spesies burung yang ada di Taman Nasional Gunung Merapi, serta menghitung prevalensi nya. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta dan *Wild Life Laboratory*, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Thailand, yang dilaksanakan dari bulan Februari hingga Maret 2016.

Metode ekstraksi DNA yang digunakan adalah PCE sedangkan metode deteksi parasit malaria pada sampel yang digunakan melalui amplifikasi DNA adalah *nested PCR*. Dari 24 sampel, 3 sampel dinyatakan positif memiliki parasit malaria di dalamnya. Tahap selanjutnya adalah sekuensing dimana diketahui bahwa *Haemoproteus* adalah jenis parasit yang ada pada 3 sampel positif tersebut. Perhitungan prevalensi menunjukkan angka 12,5% dimana angka ini tergolong sangat rendah dibandingkan dengan penelitian serupa lainnya yang memiliki angka prevalensi tinggi.

Kata Kunci : *nested PCR*, Prevalensi Malaria Burung, Taman Nasional Gunung Merapi

PENDAHULUAN

Letak Indonesia di daerah beriklim tropis menyebabkan Indonesia rentan terhadap penyakit-penyakit tropis misalnya malaria burung atau avian malaria. Saat ini, avian malaria atau malaria burung digunakan sebagai model untuk menyelidiki interaksi inang dan parasit, proses koevolusi, dan peran parasit dalam evolusi sejarah hidup inang. Satu spesies, *Plasmodium* spp. , memainkan peranan yang sangat penting sebagai suatu faktor pembatas dalam distribusi dan

kemelimpahan dari burung hutan di Hawaii. Parasit nya terdapat pada beberapa spesies burung akan tetapi paling umum menginfeksi *passerine birds* atau sejenis burung gereja. Nyamuk vektor malaria burung ini secara umum adalah *blood feeder* yang gemar untuk memindahkan parasit ini dari satu burung ke burung yang lain (LaPointe dkk., 2012).

Menurut audit IUCN tahun 2013, ada sekitar 21.286 jenis hewan di dunia terancam kepunahan dan sebanyak 1.206 jenis yang terancam punah tersebut ada di Indonesia. Dari jumlah tersebut, sebanyak 121 jenis burung Indonesia mengalami ancaman kepunahan. Beberapa jenis kemudian menjadi sangat langka atau dinyatakan punah oleh *ornithologist*, jika melihat kondisi deforestasi di Indonesia yang sangat tinggi. Meskipun burung punya mobilitas yang tinggi, akan tetapi adanya pembukaan lahan besar-besaran membuat burung berada pada kondisi tertekan. Dari total 1598 jenis burung di Indonesia, sebanyak 121 jenis mengalami ancaman kepunahan atau langka, mulai dari jenis burung air, burung madu, dan burung pemakan buah seperti Rangkong (keluarga bucerotidae). Beberapa contoh burung yang terancam punah menurut IUCN adalah Kacamata Sangihe (*Zosterops nehrkorni*) dengan status *Critically Endangered*, burung Kehicap Boano (*Monarcha boanensis*) dengan status *Critacally Endangered*, dan burung Trulek Jawa (*Vanellus macropterus*) sebagai burung air endemik pulau jawa yang dinyatakan kritis oleh IUCN pada tahun 2000 (Anonim, 2015).

Pulau Jawa merupakan salah satu pulau terpadat di dunia dengan jumlah penduduk diperkirakan 96 juta jiwa dan kepadatan 800 jiwa/km² (MacKinnon, dkk., 1998). Khusus untuk Daerah Istimewa Yogyakarta, pada tahun 2015 total penduduk di DIY adalah 3.691.196 jiwa (Badan Pusat Statistik DIY, 2015). Salah satu dampak dari tingginya kepadatan penduduk di pulau Jawa adalah pengalihan fungsi lahan menjadi lahan pertanian dan pemukiman. Terjadinya deforestasi dan fragmentasi habitat yang terus terjadi mempengaruhi persebaran maupun

kelimpahan berbagai jenis burung. Studi penyebaran burung di Jawa yang dilakukan oleh van Balen pada tahun 1999 menunjukkan adanya pola yang tidak normal dalam penyebaran burung pada berbagai jenis ketinggian. Terlihat penurunan jumlah jenis yang signifikan pada zona bukit pada ketinggian 300-1500 m. Adanya penebangan hutan yang telah dimulai pada abad 19 telah memberi dampak besar terhadap penyusutan penutupan vegetasi di Jawa terutama hutan hujan, yang sekarang telah diperkirakan tinggal 2,3% atau kurang (van Balen, 1999). Secara umum juga diketahui bahwa deforestasi yang dilakukan oleh manusia mengambil peran sangat penting dalam terjadinya perubahan iklim. Perubahan iklim yang terjadi kemudian akan sangat mempengaruhi penyebaran vektor penyakit malaria, terutama di daerah tropis seperti Indonesia.

Parasit malaria burung berpindah melalui nyamuk yang menggigit burung yang telah terinfeksi dan membawa parasitnya ke burung yang belum terinfeksi. Parasit ini tidak dapat berpindah secara langsung dari satu burung ke burung yang lain, kecuali dengan perantara nyamuk. Menurut LaPointe dkk., (2012), nyamuk dari genus *Culex* dipercaya sebagai vektor paling umum yang ditemukan, sebagai perantara *Plasmodium*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan parasit malaria di dalam sampel yang digunakan dan juga untuk mengetahui tingkat prevalensi malaria pada sampel yang diambil di Taman Nasional Gunung Merapi, Yogyakarta.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, jenis *Culex quinquefasciatus*, *C. tarsalis*, *C. stigmatasoma* telah diidentifikasi sebagai vektor dari *P. relictum* di California, sementara *C. quinquefasciatus* di Hawaii. Menurut Arsin (2012), jenis nyamuk yang terdapat di Indonesia bermacam-macam diantaranya adalah nyamuk *Anopheles*, *Aedes*, dan *Culex*. Menurut LaPointe dkk., (2012), ketiga genus ini telah dikenal sebagai vektor umum untuk *Plasmodium relictum*, salah satu spesies *Plasmodium* spesifik penyebab malaria burung di dunia.

Seiring dengan perkembangan zaman, ditemukan berbagai metode yang digunakan untuk mendeteksi parasit penyebab penyakit malaria burung ini secara lebih akurat dan cepat. *Nested* PCR merupakan salah satu metode yang dikembangkan oleh Helgren dkk., (2004), mengembangkan metode *nested* PCR, yang mampu mendeteksi tiga genus parasit malaria yang umum, yaitu *Haemoproteus*, *Plasmodium*, *Leucocytozoon*. *Nested* PCR terdiri atas dua langkah yakni amplifikasi fragmen DNA sitokrom *b* dari tiga genus tersebut. Setelah itu mengamplifikasi hasil PCR langkah pertama dengan primer yang lebih spesifik.

Nested PCR terdiri atas dua langkah yakni amplifikasi fragmen DNA sitokrom *b* dari tiga genus tersebut. Setelah itu mengamplifikasi hasil PCR langkah pertama dengan primer yang lebih spesifik. Langkah amplifikasi pertama dalam *nested polymerase chain reaction* menggunakan pasangan primer HaemNFI (5' -CATATATTAAGAGAAITATGGAG 3') dan primer HaemNR3 (5' -ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC-3') untuk mengamplifikasi parasit mtDNA dari spesies *Haemoproteus*, *Plasmodium*, dan *Leucocytozoon*. Langkah kedua terdiri atas dua PCR yang terpisah, yakni yang pertama dengan primer HaemF dan HaemR2 untuk mendeteksi *Haemoproteus* spp. dan *Plasmodium* spp. dan yang kedua dengan primer HaemFL (5' -ATGGTGTTTTAGATACTTACATT-3') dan HaemR2L (5' -CATTATCTGGATG AGATAATG GIGC-3') untuk *Leucocytozoon* spp. (Hellgren dkk., (2004). Kondisi kedua reaksi sama seperti pada PCR tahap pertama, perbedaannya ada pada jumlah siklusnya.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga Maret 2016. Preparasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya

Yogyakarta. Analisis molekuler dilakukan di Worawidh Wajwalku *Wildlife Laboratory*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Kasetsart Kamphaeng Saen, Thailand.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel DNA yang telah diekstraksi dari sampel darah burung yang didapat di Gunung Merapi, Yogyakarta. Sampel yang digunakan di dalam penelitian ini berjumlah 24 sampel koleksi Lab Biologi Molekuler Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah diekstraksi sebelumnya. Sampel ini berasal dari 11 spesies burung yakni Srigunting Kelabu (*Dicrurus leucophaeus*) sebanyak 3 sampel, Pelanduk Semak (*Malaconcincla sepiarium*) 1 sampel, Kacamata Biasa (*Zosterops palpebrosus*), Bentet Kelabu (*Lanius scach*) 3 sampel, Cikrak Daun (*Phylloscopus trivirgatus*) 4 sampel, Walik Kepala Ungu (*Ptilinopus porphyreus*) 2 sampel, Cekakak Jawa (*Halcyon cyanoventris*) 2 sampel, Pijantung Kecil (*Arachnotera longirostra*) 1 sampel, Tekukur (*Streptopelia chinensis*) 1 sampel, Ciung Batu (*Myophonus glaucinus*) 1 sampel, dan Cucak Gunung (*Pycnonotus bimaculatus*) 4 sampel.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminair Flow*, mikropipet, *microtube*, *tip*, *filter tip*, *PCR tube*, *tube rack*, *permanent marker*, sarung tangan, masker, *spindown*, mikrosentrifuse, *microwave*, *thermocycler*, *gel tray*, *comb*, *erlenmeyer*, *food wrap*, timbangan elektrik, kulkas, *UV illuminator*, *GelDoc*, parafilm, elektroforesis, *freezer*, lakban, box. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah burung sebanyak 10 µl, *Destilated Water* (DW), buffer *KHCl*, *MgCl*, *dNTP*, *Taq Polymerase*, *Hot Start*, *5x HF*, *Haem NF1*, *Haem NR2*, *F2561*, *R3950*, *R2728*, bubuk agarose, alkohol 70%, 1X *TA*.

Tahapan Kerja

Dimulai dengan preparasi sampel. Sampel yang telah diekstraksi dan dimasukkan ke dalam *tube* dipindahkan ke dalam box penyimpanan dan ditutup rapat lalu di segel dengan lakban. Pada saat sebelum digunakan, sampel terlebih dahulu ditambah dengan 10 µl DW lalu dihomogenkan. Tahapan berikutnya adalah analisis molekuler yang terdiri dari amplifikasi DNA dengan metode *nested* PCR, visualisasi hasil amplifikasi pada kedua tahap PCR, dan perhitungan prevalensi. Pada PCR tahapan 1, larutan PCR yang dibuat dalam volume 10 µl untuk setiap *tube* sampel dengan perbandingan 9 µl PCR Mix dan 1 µl *template* DNA. Dengan jumlah sampel 24 *tube*, PCR Mix dibuat dengan volume 2X untuk tiap bahannya. Reagen PCR, konsentrasinya, dan volume larutan PCR dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Volume Larutan Untuk PCR Tahap Pertama

No.	Reagen PCR	Konsentrasi Akhir	Volume (µl) 3x Reaksi
1	DW		195 µl
2	5X HF	1x	60 µl
3	dNTP	1,5 mM	6 µl
4	Primer HaemNF1	0,2 mM	3 µl
5	Primer HaemNR2	0,6 µM	3 µl
6	Taq Hot Start	0.5 u	3 µl
7	Total Volume		270 µl

Setelah PCR Mix dibuat, tube kemudian di *vortex* lalu dimasukkan ke *microcentrifuge* dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 detik. PCR Mix yang telah dihomogenisasikan kemudian diambil 9 µl dan dimasukkan ke dalam PCR *tube*.

Sampel DNA yang telah diekstraksi kemudian diambil 1 µl dan dimasukkan ke dalam *tube* yang telah berisi PCR mix. PCR *tube* kemudian di *vortex* dan di *spindown* selama 10 detik. Setelah *spindown*, PCR *tube* dimasukkan ke dalam *thermocycler*. Protokol PCR yang digunakan

adalah modifikasi dari Hellgren dkk., (2004), dimana suhu predenaturasi diatur 98°C selama 180 detik, denaturasi 98 °C selama 30 detik, *annealing* 50 °C selama 30 detik, elongasi 72 °C selama 30 detik dan postelongasi 72 °C selama 300 detik untuk 40 kali siklus. Setelah itu, analisis molekuler dilanjutkan dengan amplifikasi DNA tahap kedua. PCR Mix untuk PCR tahap kedua dapat dilihat pada tabel dibawah ini

Tabel 2. Volume Larutan Untuk PCR Tahap Kedua

No.	Reagen PCR	Konsentrasi Akhir	Volume (µl) 3x reaksi
1	DW		194 µl
2	5X HF	1X	60 µl
3	dNTP	1,5 mM	6 µl
4	Primer HaemFL	0,2 mM	3 µl
5	Primer HaemNR2	0,6 µM	3 µl
6	Produk PCR Tahap 1		1 µl
7	Taq Hot Start	0.5 u	3 µl
8	Total Volume		270 µl

Larutan PCR dibuat di dalam *cool box* dengan mencampur bahan-bahan larutan di atas. *Microtube* yang telah ditandai di *vortex* lalu di *spindown* kemudian dimasukkan kedalam *thermocycler*. Suhu predenaturasi diatur 94°C selama 180 detik, denaturasi 94 °C selama 30 detik, *annealing* 50 °C selama 30 detik, elongasi 72 °C selama 45 detik dan postelongasi 72 °C selama 600 detik untuk 30 kali siklus. Setelah amplifikasi selesai, tahap berikutnya yang dilakukan adalah visualisasi. Visualisasi hasil PCR dilakukan menggunakan metode elektroforesis. Gel agarosa yang digunakan adalah gel agarosa dengan kepadatan 2 %.

Sekuensing

Sampel positif dari penelitian ini berupa produk PCR kemudian disiapkan sebanyak 10 µl per reaksi di dalam ddH₂O untuk disekuensing. Sekuensing sampel dilakukan oleh First Base Laboratories Malaysia yakni perusahaan yang bergerak di bidang penelitian molekuler termasuk di dalamnya menyediakan jasa sekuensing. Analisis molekuler selanjutnya dilakukan dengan

menggunakan *software* yang ada di NCBI yakni BLAST.

Analisis Data

Perhitungan prevalensi dilakukan dengan menggunakan rumus dibawah ini

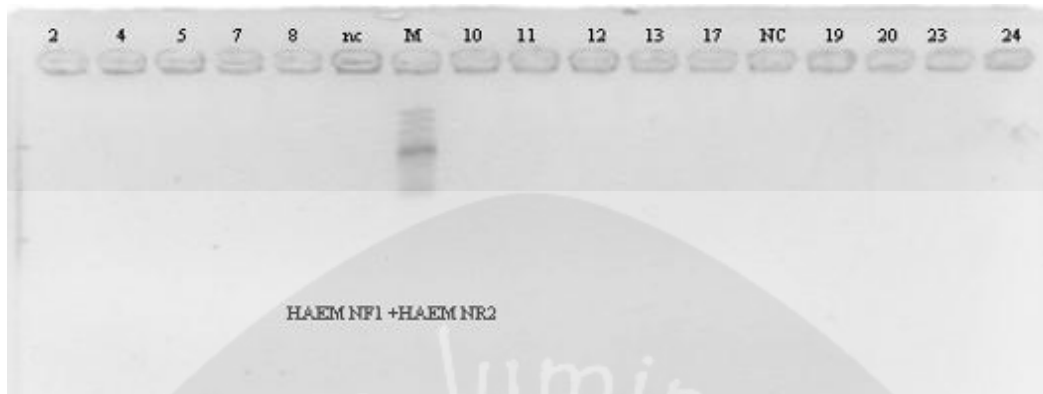
$$\text{Prevalensi} = \text{Jumlah sampel positif} / \text{jumlah seluruh sampel}$$

Hasil analisis molekuler kemudian dijelaskan secara deskriptif. Data kemudian dibandingkan dengan perhitungan prevalensi yang telah dilakukan.

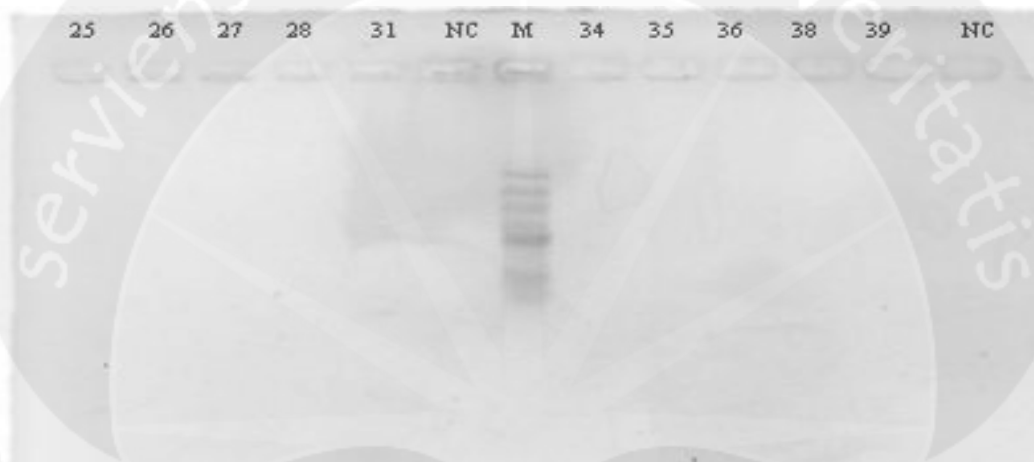
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian dan diagnosis malaria burung, terdapat beberapa metode termasuk diantaranya metode mikroskopis. Metode ini banyak digunakan, namun kurang baik untuk mendeteksi keberadaan parasit dengan intensitas yang rendah. Selain itu metode ini memerlukan pengamat yang terlatih. Diagnosis parasit malaria burung dapat dilakukan secara langsung dan tidak langsung. Diagnosis secara langsung dapat dilakukan dengan mengidentifikasi parasit malaria burung dalam darah menggunakan mikroskop atau dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Diagnosis secara tidak langsung dilakukan dengan mengidentifikasi keberadaan antibodi di dalam tubuh burung menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA) atau *Western Blotting* (Atkinson, 2005).

Setelah dilakukan amplifikasi dengan metode *nested PCR*, dilakukan pula elektroforesis DNA dengan tegangan listrik 100 v selama 20 menit. Hasil amplifikasi divisualisasikan dengan menggunakan GelDoc.

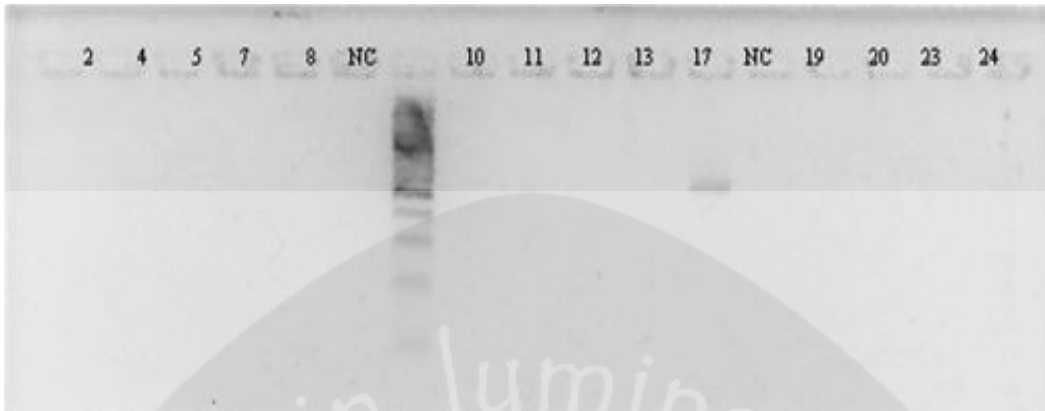


Gambar 1. Hasil Visualisasi PCR Tahap I Pada 24 Sampel Burung Gunung Merapi
Keterangan : 2-24 = kode sampel burung, nc = *negative control*, M = *marker*

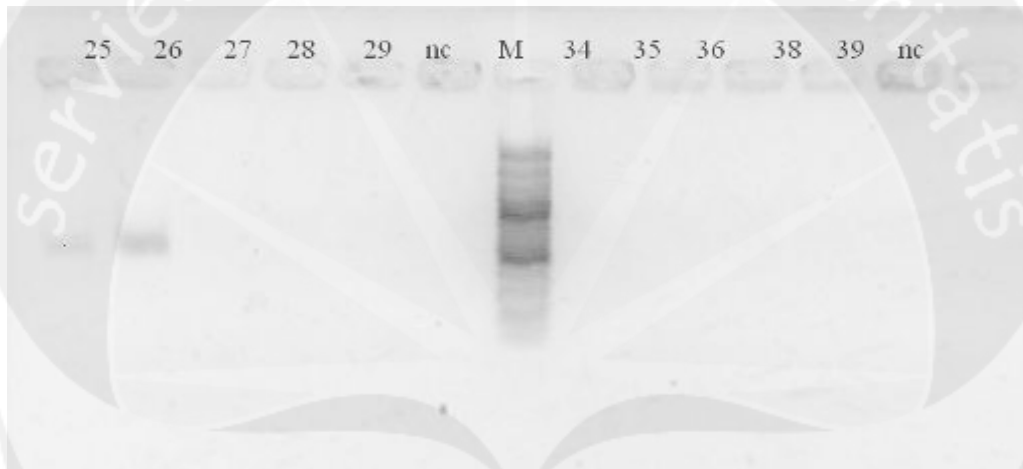


Lanjutan Gambar 1. Keterangan : 25-39 = kode sampel burung, NC = *negative control*,
M = *marker*

Pada PCR tahap I, pasangan primer yang digunakan adalah HaemNF1 dan HaemNR2. Siklus amplifikasi yang digunakan sebanyak 40 siklus dengan suhu *annealing* 50°C selama 30 detik dengan menggunakan *Hot Start Taq*. Hasil amplifikasi tahap 1 pada gambar 1 menunjukkan hasil visualisasi *no band*. Amplifikasi tahap kedua atau *nested* PCR kemudian dilakukan sesuai dengan protokol yang telah ditentukan.



Gambar 2. Hasil Visualisasi PCR Tahap II Pada 24 Sampel Burung Gunung Merapi
Keterangan : 2-24 = kode sampel burung, NC = *negative control*, M = *marker*



Lanjutan Gambar 2. Keterangan : 25-39 = kode sampel burung, NC = *negative control*,
M = *marker*

Berdasarkan hasil visualisasi pada gambar 3, dapat dilihat bahwa hasil visualisasi yang ditunjukkan berupa *faint band* pada sampel dengan kode 17, 25, dan 26. *Faint band* adalah hasil visualisasi yang dapat disebabkan karena beberapa alasan, dalam kasus ini karena konsentrasi DNA dalam sampel sangat sedikit. Kode 17 adalah kode untuk sampel yang berasal dari spesies *Pycnonotus bimaculatus* atau Cucak Gunung. Kode 25 adalah kode untuk sampel yang berasal dari spesies *Zosterops palpebrosus* atau Kacamata Biasa. Kode 26 adalah kode untuk sampel yang berasal dari spesies *Halcyon cyanovetris* atau Cekakak Jawa.

Ketiga sampel positif ini kemudian dikirim untuk dilakukan sekuensing. Sekuensing di dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis parasit malaria burung yang ada di dalam

sampel. Analisis molekuler selanjutnya dilakukan menggunakan *software* BLAST yang tersedia di NCBI. Di bawah ini adalah rangkuman dari analisis molekuler yang dilakukan dengan BLAST

Search Parameters		
Program	blastn	
Word size	28	
Expect value	10	
Hitlist size	100	
Match/Mismatch scores	1,-2	
Gapcosts	0,0	
Low Complexity Filter	Yes	
Filter string	L;m;	
Genetic Code	1	

Database	
Posted date	Oct 22, 2016 9:23 PM
Number of letters	130,199,778,879
Number of sequences	39,576,059
Entrez query	none

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.33271	1.28
K	0.620991	0.46
H	1.12409	0.85

Results Statistics	
Length adjustment	35
Effective length of query	919
Effective length of database	128814616814
Effective search space	118380632852066
Effective search space used	118380632852066

Gambar 3. *Search Summary* dengan BLAST

Berdasarkan hasil sekuensing, genus spesifik yang ada di dalam sampel positif berasal dari genus *Haemoproteus*. Terdapat dua spesies dari genus *Haemoproteus* yang positif terdapat di dalam sampel yakni *Haemoproteus erythrogravidus* dan *Haemoproteus coatneyi*. Pada hasil sekuensing, tidak ditemukan adanya genus lain penyebab malaria burung di dalam sampel seperti *Plasmodium* dan *Leucocytozoon*. Pada gambar diatas dapat dilihat bahwa di dalam sampel hanya terdapat parasit dengan jenis *Haemoproteus* dengan spesies *Haemoproteus erythrogravidus* dan *Haemoproteus coatneyi*.

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Haemosporida	apicomplexans		112	
• Haemoproteidae	apicomplexans		30	
• • Haemoproteus	apicomplexans		28	
• • • Haemoproteus coatneyi	apicomplexans	196	1	Haemoproteus coatneyi hits
• • • Haemoproteus erythrogravidus	apicomplexans	196	1	Haemoproteus erythrogravidus hits
• • • Haemoproteus sp. 1 ADG-2013	apicomplexans	196	4	Haemoproteus sp. 1 ADG-2013 hits
• • • Haemoproteus sp.	apicomplexans	196	7	Haemoproteus sp. hits
• • • Haemoproteus sp. 2104	apicomplexans	196	1	Haemoproteus sp. 2104 hits
• • • Haemoproteus sp. 1774	apicomplexans	196	1	Haemoproteus sp. 1774 hits
• • • Haemoproteus turkur	apicomplexans	196	1	Haemoproteus turkur hits
• • • Haemoproteus sp. ZOSXAN03	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. ZOSXAN03 hits
• • • Haemoproteus sp. ZOSLAT11	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. ZOSLAT11 hits
• • • Haemoproteus sp. ZOSLAT10	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. ZOSLAT10 hits
• • • Haemoproteus symii	apicomplexans	191	1	Haemoproteus symii hits
• • • Haemoproteus macrovacuolatus	apicomplexans	191	1	Haemoproteus macrovacuolatus hits
• • • Haemoproteus sp. ACC/KGM63	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. ACC/KGM63 hits
• • • Haemoproteus sp. BROW06-201	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. BROW06-201 hits
• • • Haemoproteus sp. 2223	apicomplexans	191	1	Haemoproteus sp. 2223 hits
• • • Haemoproteus ilanpapernai	apicomplexans	191	1	Haemoproteus ilanpapernai hits
• • • Haemoproteus sp. 1 DSA-2013	apicomplexans	187	1	Haemoproteus sp. 1 DSA-2013 hits
• • • Haemoproteus sp. ZOSXAN02	apicomplexans	185	1	Haemoproteus sp. ZOSXAN02 hits
• • • Haemoproteus sp. SDLG01	apicomplexans	185	1	Haemoproteus sp. SDLG01 hits
• • Parahaemoproteus sp. ACC/KGM63	apicomplexans	191	1	Parahaemoproteus sp. ACC/KGM63 hits
• • Parahaemoproteus sp. bird_sp.1	apicomplexans	191	1	Parahaemoproteus sp. bird_sp.1 hits

Gambar 4. *Taxonomy Reports* dengan BLAST

Pada gambar diatas, *hits* pada Haemosporida atau Haemosporina (*Taxonomy ID* 5819) adalah 112. Berikutnya pada takson *familia* atau keluarga adalah Haemoprotidae (*Taxonomy ID*1639121) dengan *hits* 30. Pada takson *genus* atau marga Haemoproteus (*Taxonomy ID* 5819) memiliki *hits* 28. Pada tingkatan spesies seperti *Haemoproteus coatneyi*, *Haemoproteus erythrogravidus* memiliki bilangan *hits* 1.

Sampel positif kemudian dihitung prevalensi nya dengan membagi jumlah sampel yang positif dengan total sampel. Jumlah sampel positif pada penelitian ini adalah 3 sampel, kemudian jumlah tersebut dibagi dengan total sampel yakni 24 sampel. Hasil perhitungan prevalensi yang didapat adalah 12,5 %. Prevalensi malaria burung dengan nilai 12,5% dapat digolongkan sebagai tingkat prevalensi yang rendah.

Penelitian serupa dengan hasil prevalensi rendah lainnya telah dilakukan. Meskipun di dalam tinjauan pustaka telah disinggung bahwa peran penyakit tidak signifikan di dalam penurunan populasi burung, akan tetapi beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan indikasi

awal peran penting penyakit bagi penurunan populasi. Yuda (2008) melakukan penelitian pada Gelatik Jawa (*Padda oryzivora*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, ditemukan tingkat prevalensi malaria burung pada Gelatik Jawa adalah 28,95 % dengan jenis parasit yang menyerang burung berupa *Plasmodium* dan *Haemoproteus*. Paperna, dkk., (2005), menyatakan bahwa terdapat lebih dari 1 jenis parasit malaria burung pada lebih dari 50% burung di hutan Asia Tenggara.

Tingkat prevalensi yang rendah ini dapat disebabkan karena resistensi dan imunitas yang telah dikembangkan oleh spesies-spesies yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Penelitian serupa dengan hasil prevalensi rendah lainnya telah dilakukan. Meskipun di dalam tinjauan pustaka telah disinggung bahwa peran penyakit tidak signifikan di dalam penurunan populasi burung, akan tetapi beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan indikasi awal peran penting penyakit bagi penurunan populasi. Yuda (2008) melakukan penelitian pada Gelatik Jawa (*Padda oryzivora*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, ditemukan tingkat prevalensi malaria burung pada Gelatik Jawa adalah 28,95 % dengan jenis parasit yang menyerang burung berupa *Plasmodium* dan *Haemoproteus*. Bukti lain yang menunjukkan indikasi awal peran penting penyakit dalam penurunan populasi burung di Indonesia adalah penelitian yang dilakukan Marjen (2012). Pada penelitiannya mengenai tingkat prevalensi malaria burung dengan menggunakan burung Bondol Jawa (*Lonchura leucogastroides*) ditemukan tingkat prevalensi pada sampel darah burung Bondol Jawa sebesar 20%.

Meskipun pada beberapa penelitian di atas tingkat prevalensi yang ditunjukkan masih tergolong rendah, akan tetapi perubahan cuaca yang menyebabkan pemanasan global perlu menjadi suatu hal yang penting untuk dipertimbangkan. Laporan World Wildlife Fund menunjukkan banyak bukti pengaruh perubahan iklim bagi kehidupan burung. Misalnya lahan

basah yang ada di sepanjang pantai mediterania yang selama ini digunakan sebagai habitat burung migran pada tahun 2080 saat terjadi kenaikan permukaan laut dengan peningkatan suhu $1,5^{\circ}\text{C}$ - $4,2^{\circ}\text{C}$. Kaitannya dengan penyakit adalah distribusi vektor pembawa penyakit malaria burung itu sendiri yang semakin luas, terutama pada Negara tropis seperti Indonesia. Hal ini kemudian menjadi bahan pertimbangan dalam indikasi awal yang mendukung peran penyakit sebagai faktor penting dalam penurunan populasi burung di dunia, terutama di Indonesia



SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan yakni pada 24 sampel yang digunakan, 3 sampel diantara nya positif terdapat parasit penyebab malaria burung. Parasit yang menyebabkan malaria burung ditemukan di dalam sampel DNA burung yang berasal dari genus *Haemoproteus* dengan spesies *Haemoproteus erythrogravidus* dan *Haemoproteus coatneyi*. Selain itu kesimpulan lainnya dari penelitian ini adalah tingkat prevalensi yang diperoleh dari perhitungan, yakni 12,5 %.

Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya, perlu dilakukan pengukuran kuantitas dan kualitas dari DNA sampel sebelum digunakan untuk mencegah hasil visualisasi seperti yang diperoleh pada percobaan ini. Selain itu penelitian mengenai distribusi dan kemelimpahan dari vektor parasit ini di daerah Gunung Merapi juga diperlukan untuk mendukung penelitian-penelitian sejenis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *Nested PCR*. <http://www.perstation.com/nested-pcr/>. 4 November 2015.
- Arsin, A. A. 2012. *Malaria di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*. Masagena Press, Makassar.
- Atkinson, C. T. 2005. *Ecology and Diagnosis of Introduced Avian Malaria in Hawaiian Forest Birds*. USGS.
- Hellgren, O., Waldenstrom, J., Bensch, S. 2004. A New PCR Assay For Simultaneous Studies of Leucocytozoon Plasmodium and Haemoproteus From Avian Blood. *Journal of Parasitol* 90(4):797-802.
- LaPointe, D. A., Atkinson, C. T., Samuel, M. D. 2012. Ecology and Conservation Biology of avian Malaria. *Ann. N. Y. Acad. Sci* 1249:211-226.

MacKinnon, J. 1998. *Burung-Burung di Sumatera, Jawa, Bali, dan Kalimantan* (Terjemahan). Puslitbang Biologi - LIPI - Birdlife Indonesia, Bogor.

Marjen, E. E. 2012. Prevalensi Malaria Burung Bondol Jawa *Lonchura leucogastroides* di Pantai Trisik, Kabupaten Kulonprogo, Yogyakarta, Menggunakan Metode *Nested PCR*. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.

Shahnaz, J., Jepson, P., Rudyanto. 1995. *Burung-Burung Terancam Punah di Indonesia*. Departemen Kehutanan-Birdlife International Indonesia Programme, Bogor.

Valkiunas, G. 2005. *Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia* CRC Press, New York.

Van Balen, B. 1999. *Birds on Fragmented Island : Persistence in The Forest of Java and Bali*. Tropical Resource Management Papers Wageningen University (30):181.

Yuda, P. 2008. High Prevalence level of Avian Malaria in the Wild Population of the Java Sparrow. *Biota* (14)3:198-200.